① 35－40

动 物 学 研 究 2000, Feb. 21 (1): 35～40　　CN 53－1040/Q ISSN 0254－5853
Zoological Research

中国对虾16*S* rRNA基因序列多态性的研究

Q959.223.5
Q953

邱高峰 常林瑞 徐巧婷 方雄英 楼允东
(上海水产大学渔业学院 上海 200090 qiugf@online.sh.cn)

摘要：利用PCR技术扩增获得中国对虾（*Penaeus chinensis*）线粒体DNA的16*S* rRNA基因片段，通过测定该基因片段的序列，分析了取自我国烟台、长岛、青岛近海和宁波养殖的17只中国对虾遗传多态性。结果发现，不同地理种群存在丰富的DNA序列多态性，17只个体具有17种基因型，在扩增的长为523 bp的基因片段中，共检测到37个多态性核苷酸位点（7.07%）。UPGMA法构建的分子系统树表明不同地理种群中国对虾存在一定程度的遗传分化，长岛群体与烟台群体遗传关系较近、宁波群体次之、青岛群体为相对独立的一支。

关键词：中国对虾；线粒体DNA；16*S* rRNA；DNA序列；多态性　遗传多态性、PCR
中图分类号：959.223+63　**文献标识码**：A　**文章编号**：0254－5853(2000)01－035－06

中国对虾（*Penaeus chinensis*）广泛分布于我国黄海、渤海，东海和南海也有少量分布，是我国最重要的海水养殖虾类，年总产量创造过70万吨的世界记录。但与其他对虾类养殖相似，迄今为止养殖的对虾均为未经遗传选育的野生种群，尚未形成养殖品系。加之各种人为和自然因素的影响及对虾病的猖獗，使得我国对虾野生资源面临种质衰退的危险，对其遗传种质和种群遗传结构进行研究成为目前的当务之急。

获得种群遗传多态性的资料及建立种群遗传标记，无论是对于种质资源的保护还是加速选择育种的进程均有重要的指导意义。本世纪70年代以来，同工酶电泳技术被广泛应用于对虾类种群遗传多态性研究（Lester, 1979; Mulley 等, 1980; Redfied 等, 1981; Tam 等, 1993）。Hedgecock 等（1982）综述了65种十足类甲壳动物同工酶电泳资料，结果发现对虾类同工酶多态性位点的比率及平均杂合度均非常低，依靠同工酶差异无法建立对虾种群遗传标记，从而限制了该技术在对虾类种群遗传结构分析上的应用。近年来，随着分子生物学技术的发展，出现了一系列新的分子标记技术，如限制性片段长度多态性（RFLP）技术、DNA指纹技术等，克服了以往用同功酶分析多态性位点比率偏低的缺陷。Benzie等（1993）应用线粒体DNA（mtDNA）RFLP技术研究澳大利亚东西海岸斑节对虾（*P. monodon*）野生种群，发现了丰富的多态性。尽管如此，由于mtDNA纯化较为困难，纯化产量低，尚不能满足限制性酶切消化的需求，故有关对虾类mtDNA RFLP分析的报道较少。PCR技术的诞生，使得不需进行分子克隆就可通过扩增直接测定基因序列成为现实，为此，人们开始应用PCR技术扩增mtDNA的某一基因片段，分析其序列多态性（Palumbi 等, 1991; Machado 等, 1993）。本研究首次测定了中国对虾16*S* rRNA基因序列，分析了我国近海不同种群的中国对虾16*S* rRNA基因序列多态性，可为今后渔业资源管理、种质资源保护和遗传选育提供分子遗传学基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集

中国对虾标本于1997年4～5月分别采自烟台（YT）、长岛（CD）、青岛（QD）、宁波（NB），除宁波样品为养殖虾外，其余样品均为海捕虾。所有活体标本浸泡于80%～100%的酒精中于4℃冰箱保存备用。

1.2 总DNA提取

随机选取烟台、长岛、青岛的对虾标本各5只，宁波对虾标本2只，进行总DNA提取，剪取每只对

收稿日期：1999－04－19；修改稿收到日期：1999－06－24
基金项目：上海市高等学校跨世纪人才培养基金——"曙光计划"项目和上海市教委高校青年教师学术基金项目

虾腹部肌肉约100 mg,切成碎片,研磨至粉末状,用含蛋白酶K的裂解液(10 mmol/LTris-HCl,pH8.0,2 mmol/L EDTA,1%SDS)于37℃消化过夜。次日分别以饱和酚、饱和酚:异戊醇:氯仿(25:24:1)、氯仿:异戊醇(24:1)提取、纯化总DNA,随后以100%冰乙醇(-20℃)沉淀DNA,干燥后溶于TE中,置4℃冰箱保存备用。

1.3 16*S* rRNA基因片段扩增与测序

用于PCR扩增的特异性引物为序列L2510(5′-CGCCTGTTTAACAAAAACAT-3′)和H3059(5′-CCGGTCTGAACTCAGATCATGT-3′)(Bouchon等,1994),由中科院细胞生物研究所合成,使用华美生物工程公司生产的PCR扩增仪,反应总体积为25 μL,其中包括2.5 μL 10×Buffer(100 mmol/LTris-HCl pH8.3,30 mmol/L $MgCl_2$,500 mmol/L KCl)2.5 μL dNTP(2 μmol/L),2.5 μL引物(5 μmol/L)、1 μL TaqDNA酶、1 μL模板DNA,补足灭菌双蒸水至终体积,其上滴加2滴消毒石蜡油、扩增反应程序如下:94℃预变性120 s后,94℃变性50 s,50℃退火40 s,72℃延伸50 s,共运行35个循环,最后一个循环结束后再延伸300 s。PCR扩增产物上样至2%琼脂糖凝胶(含溴乙锭0.5 μg/mL)电泳,于紫外灯下检测。双链DNA扩增产物纯化后,于DNA自动测序仪上双向测序,用于测序的引物序列与PCR扩增使用的引物序列相同。

1.4 数据分析

依Kimura(1980)双参数法(two-parameter method)对核苷酸位点的替换数进行统计,计算不同种群间的DNA序列差异。采用MEGA(Kumar等,1993)软件中的非加权组平均法(unweighted pair group method using arithmatic average,UPGMA)进行聚类分析,构建聚类关系树,置信度用Bootstrap值估计(Felsenstein,1985)。

2 结果

2.1 16*S* rRNA基因序列及其多态性

对取自不同海区的中国对虾17只个体的总DNA进行PCR扩增,获得523 bp的16*S* rRNA基因片段,共检测出37个多态性核苷酸位点(7.07%)和17种基因型(图1,表1),即每一个体均具有单一基因型(haplotype)。产生插入/缺失(insertion/deletion)突变的核苷酸位点共12个,发生转换(transition)的核苷酸位点共14个,颠换(transvertion)为11个,没有发现A与T之间的碱基置换类型,第449~523位碱基之间的DNA存在高频率的多态性核苷酸位点(30.67%),相比之下,第1~208位碱基却相对较保守,仅发现1个核苷酸突变位点(图1)。除第304、334、358、449、460、477、478、483、494、509、523位核苷酸突变位点有2只或2只个体以上外,其他多态性核苷酸位点通常只在1只个体上检测到(图1)。不同海区的中国对虾种群内多态性核苷酸位点数量也不一,烟台样品有18个核苷酸位点产生突变,个体间差异在0.38%~3.06%,平均1.43%,长岛有10个核苷酸位点产生突变,个体间差异在0.19%~1.72%,平均0.84%,青岛有14个核苷酸突变位点,个体间差异在0.38%~2.29%,平均1.06%,而宁波只有3个核苷酸突变位点,个体间差异在0.38%,不同种群之间的遗传差异如表1。

表1 中国对虾16*S* rRNA基因序列差异的平均百分率

Table 1 Average percentage of the divergence for 16*S* rRNA gene sequences of Chinese shrimps, *P. chinensis*

	YT	CD	QD	NB
YT				
CD	1.07			
QD	1.35	1.11		
NB	1.13	0.88	1.13	

2.2 分子系统树

根据16*S* rRNA基因序列差异构建的分子系统树如图2。

3 讨论

动物mtDNA结构较简单,仅编码少量蛋白质,呈母系遗传,且进化速度快,其碱基置换率为核DNA的5~10倍,从而增大了种群间及近缘种间的遗传差异,使之易于被检测,因此mtDNA分析技术为研究种群遗传结构与差异提供了一种灵敏检测方法。与采用提纯mt DNA直接进行RFLP分析方法相比,PCR扩增后分析mtDNA基因序列多态性(或对PCR产物进行RFLP分析)的方法具有许多无法比拟的优点:①提取DNA所需的样品数量要求少,100 mg的组织提取的DNA足以满足实验要求。②样品保存简单,只要保存在80%~100%酒精中,特别适合于野外采集,而RFLP所需的样品必须新鲜或保存于液氮中或-20℃。③只需提取总DNA,提取过程简单,DNA纯度要求也

	10	20	30	40	50	60	70	80
YT-1	TTATATAAAG	TCTAGCCTGC	CCACTGATTT	AGTTTAAAGG	GCCGCGGTAT	ATTGACCGTG	CGAAGGTAGC	ATAATCATTA
YT-2	....	........A.	....	....	....	....	....	....
YT-3	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-4	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-5	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-1	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-2	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-3	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-4	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-5	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-1	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-2	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-3	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-4	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-5	....	....	....	....	....	....	....	....
NB-1	....	....	....	....	....	....	....	....
NB-2	....	....	....	....	....	....	....	....

	90	100	110	120	130	140	150	160
YT-1	GTCTTTTAAT	TGAAGGCTTG	TATGAATGGT	TGGACAAAAA	GTGAGCTGTC	TCAATTATAA	TAATTGAATT	TAACTTTTAA
YT-2	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-3	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-4	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-5	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-1	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-2	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-3	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-4	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-5	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-1	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-2	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-3	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-4	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-5	....	....	....	....	....	....	....	....
NB-1	....	....	....	....	....	....	....	....
NB-2	....	....	....	....	....	....	....	....

	170	180	190	200	210	220	230	240
YT-1	GTGAAAAGGC	TTAAATGAAT	TAAGGGGACG	ATAAGACCCT	ATAAAGCTTG	ACAATAATTT	AATTATACTA	TCAATTGTTA
YT-2	....	....	....	....	....	.......C..	....	....
YT-3	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-4	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-5	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-1	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-2	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-3	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-4	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-5	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-1	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-2	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-3	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-4	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-5	....	....	....	....	.......C..	....	....	....
NB-1	....	....	....	....	....	....	....	....
NB-2	....	....	....	....	....	....	....	....

	250	260	270	280	290	300	310	320
YT-1	GTGTAACTTG	GTTTTAATTA	ATATTTGTTA	CGTTGGGGCG	ACGGGAATAT	AACAAGTAAC	TGTTCTTAAA	TATTTAATAA
YT-2	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-3	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-4	....	....	....	....	....	....	....	....
YT-5	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-1	....	....	....	....	....	....	..C.......	....
CD-2	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-3	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-4	....	....	....	....	....	....	....	....
CD-5	....	....	....	....	....	....	....	....
QD-1	.A........	....	....	....	....	....	..C.......	....
QD-2	....	...C......	....	....	....	....	....	....
QD-3	....	....	....	....	....	....	..C.......	....
QD-4	....	....	....	....	....	....	..C.......	....
QD-5	....	....	....	....	....	....	....	....
NB-1	....	....	....	....	....	.......G..	....	....
NB-2	....	....	....	....	....	....	....	....

```
             330        340        350        360        370        380        390        400
YT-1  CAAATATAAT TGG-AAAACT AGCATGATCC TCTATTAGTG ATT-AAAAGA TTAAGTTACT TTA-GGGATA ACAGCGT-AA
YT-2  .......... .......... .......... .......T.. .......... .......... .......... ..........
YT-3  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
YT-4  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
YT-5  .......... ...T...... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
CD-1  .......... ...C...... .......... .......... .......... .......... .......... .......T..
CD-2  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
CD-3  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
CD-4  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
CD-5  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
QD-1  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
QD-2  .......... .......... .......... C......... .......... .......... ...C...... ..........
QD-3  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
QD-4  .......... .......... .......... .......... ...C...... .......... .......... ..........
QD-5  .......... .......... .......... .......T.. .......... .......... .......... ..........
NB-1  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
NB-2  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
             410        420        430        440        450        460        470        480
YT-1  TCTTCTTTGA GAGTCCTCAT CGACAAGAAG GTTTGCGACC TCGATGTT-G AATTAAGGTA TCCTTATGAT GCAGCAGTTG
YT-2  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
YT-3  .......... .......... .......... .......... ........T. .......... .......... ..........
YT-4  ..C....... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
YT-5  .......... .......... .......... .......... ........T. ....C..... .......... .......C.C
CD-1  .......... .......... .......... .......... ........T. .......... .......... ...C.-....
CD-2  .......... .......... .......... .......... ........T. .......... .......... ..........
CD-3  .......... .......... .......... .......... ........T. .......... .......... ..........
CD-4  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
CD-5  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
QD-1  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
QD-2  .......... .......... .......... .......... ........T. .......... .......... ..........
QD-3  .......... .......... .......... .......... ........T. .......... .......... ..........
QD-4  .......... .......... .......... .......... ........T. .......... .......... ..........
QD-5  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......-..
NB-1  .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ......C...
NB-2  .......... .......... .......... .......... .......... ........G. .......... ......C...
             490        500        510        520
YT-1  T-AAAGGAAG GTC-TG--TT CGACCTTT-A AATCC-TTAC ATG
YT-2  .T........ .......... .......... .......... ...
YT-3  .......... .......... ........T. .......... ...
YT-4  .......... .......... ........T. .......... ...
YT-5  .C.C...... ...C...... .....C..TC .....C.... ..C
CD-1  .C........ .......... ........T. .......... CG.
CD-2  .......... .......... ........T. .......... ...
CD-3  .......... .......... .......... .......... ...
CD-4  .......... .......... ........T. .......... ...
CD-5  .......... .......... ........T. .......... ...
QD-1  .......... .......... .......... .......... ...
QD-2  .......... .......... .......... .....C.... ...
QD-3  .......... .......... .C........ .......... ...
QD-4  .......... .......... .......... .......... ...
QD-5  .......... ...C-.GT.. .......... .......... ...
NB-1  .......... .......... .......... .......... ...
NB-2  .......... .......... .......... .......... ...
```

图 1　中国对虾 4 个种群的 16*S* rRNA 基因片段序列(523 bp)

Fig.1　Partial sequence (523 bp) of the 16*S* rRNA gene from four populations of *Penaeus chinensis*

· 表示核苷酸序列与烟台 1 号个体(YT-1)相同;- 代表核苷酸插入/缺失[dots denote nucleotides identical to the sequence from individual No.1 (YT-1); dashes (-) represent insertions/deletions of the nucleotide]。

不高，而提取 mtDNA 手续繁琐，纯度要求高，产量低。④直接进行序列分析的数据比 RFLP 酶切法更准确和可靠。如 Smith（1989）应用 mtDNA RFLP 法研究纽芬兰东西部鳕鱼的遗传多态性没有发现多态性核苷酸位点，而 Carr 等（1991）用 PCR 扩增直接测序法却发现大量的序列多态性核苷酸位点；Bouchon 等（1994）扩增了斑节对虾和日本对虾（*P.japonicus*）16*S* rRNA 基因，利用限制性内切酶消化后进行 RFLP 分析，并未发现多态性片段，而本研究结果与 Machado 等（1993）相似，利用序列测定法均发现 16*S* rRNA 基因具有丰富的序列多态性核苷酸位点，从而进一步证明 16*S* rRNA 基因适于对虾种群分子遗传标记研究。

本研究结果表明，我国近海不同海区（黄海、渤海、东海）中国对虾种群间及种群内均存在丰富的遗传多态性。17 只个体的基因型均不相同，UPGMA 法聚类分析结果表明，不同海区中国对虾种群存在一定程度的遗传分化，同一海区（渤海）的长岛群体和烟台群体遗传关系最近，聚类分析时长岛有 4 只个体与烟台 3 只个体首先聚在一起，宁

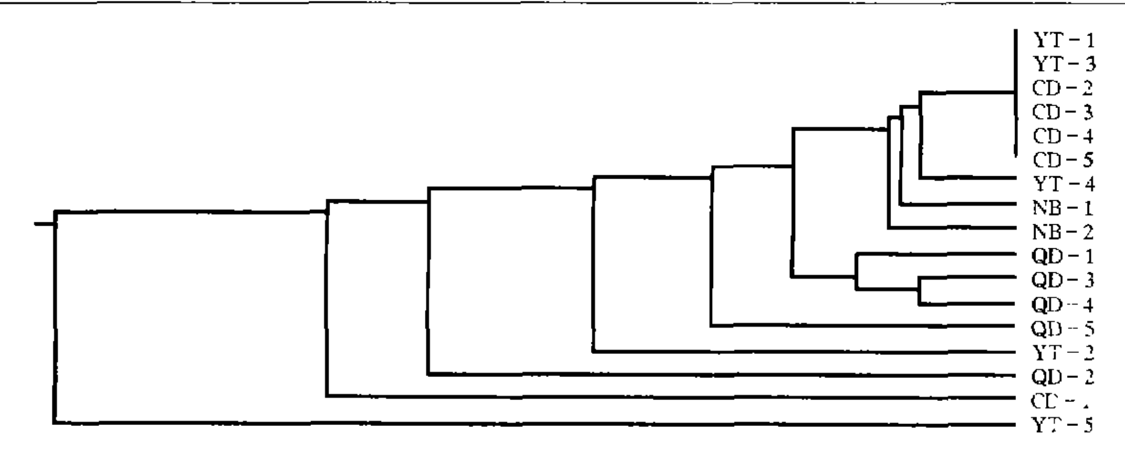


图2 应用UPGMA法构建的16S rRNA基因序列的分子系统树

Fig.2 Molecular phylogenetic tree of the 16S rRNA gene sequence constructed by the UPGMA method

每个核苷酸位点替换数用Kimura双参数法估计，置信值来自500个复制序统计(the number of nucleotide substitutions per site, indicated by the scale, was estimated with Kimura's two-parameter method. Bootstrap values about branch were derived from 500 replication)。

波群体（东海）次之，主要是由于用于本研究的宁波样品为养殖种类，其亲本虽然为宁波近海的海捕虾，但东海的中国对虾分布较少，大多为人工放流后形成的群体，即来源于渤海和黄海，从而使东海海区的中国对虾种群结构趋于复杂化，本研究使用的中国对虾标本可能系从渤海海区通过人工移植至宁波近海形成的群体后代，故在聚类关系分析时宁波群体与长岛群体和烟台群体的遗传关系较近，而青岛群体（黄海）遗传分化显著，为相对独立的一支。

不同海区中国对虾种群间彼此存在较大的多态性，与不同海区的环境条件有密切关系，渤海深度浅，水温季节性变化大，黄海由于存在冷水团，水温常年保持在4～8℃，而东海则受黑潮暖流的影响，处于黑潮主流区，中国对虾分布较少，主要为人工放流群体。海洋环境条件的差异可能是导致我国近海不同海区中国对虾种群产生一定程度遗传分化的主要原因。另一个原因可能是由于不同海区的中国对虾种群在生殖洄游时互不混杂，群体之间的基因流动缓慢，保持了相对独立的繁殖群体，中国对虾每年2、3月离开黄海南部的越冬场，由南向北进行生殖洄游，密集在山东半岛（黄海）东端后，向西进入渤海湾等海区的各繁殖区产卵，越冬后来自不同海区的中国对虾仍回到了各自原来的繁殖区，从而保持了繁殖群体的相对独立性，由此我们推测不同海区的中国对虾在黄海南部具有各自不同的越冬区域。

致　谢　实验样品采集得到青岛海洋大学水产学院董双林教授、卢敬让博士；烟台市水产学校韩茂森副教授；宁波大学水产学院徐善良老师的大力支持和协助，谨致谢忱。

参 考 文 献

Benzie J A H, Ballment E, Frusher S. 1993. Genetic structure of *Penaeus monodon* in Australia: concordant results from mtDNA and allozymes[J]. *Aquaculture*, 111: 89-93.

Bouchon D, Souty-Grosset C, Raimond R, 1994. Mitochondrial DNA variation and markers of species identity in two penaeid shrimp species: *Penaeus monodon* Fabricius and *P. japonicus* Bate[J]. *Aquaculture*, 127.

Carr S M, Marshall H D, 1991. Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome b gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymerase chain reaction[J]. *Can J Fish. Aquat. Sci.*, 48: 58-52.

Felsenstein J, 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap[J]. *Evolution*, 39: 783-791.

Hedgecock D, Tracey M, Nelson K, 1982. Genetics[A]. In: Bliss D E The biology of Crustacea[M]. Vol. 2. New York: Acad. Press 283-403.

Kimura M, 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence[J]. *J. Mol. Evol.*, 16: 111-120

Kumar S, Tamura K, Nei M, 1993 MEGA: Molecular evolutionary genetics analysis, Version 1.01 [CP]. Pennsylvenia State University Press.

Lester L J, 1979. Population genetics of penaeid shrimp from the Gulf of Mexico[J]. *J. Hered.*, 70: 175-180.

Machado E G, Dennebouy M, Suarez M O *et al*, 1993. Mitochondrial 16 S-rRNA gene of two species of shrimps: sequence variability and

secondary structure[J]. *Crustaceana*, **65**(3): 279 - 286.
Mulley J C, Latter B, 1980. Genetic variation and evolutionary relationships within a group of thirteen species of penaeid prawns[J]. *Evolution*, **34**: 904 - 916.
Palumbi S R, Benzie J, 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar penaeid shrimp[J]. *Mol. Mar. Biol. Biotech.*, **1**(1): 27 - 34.
Redfied J A, Hedgecock D, Nelson K *et al*, 1981 Low heterozygosities in tropical marine crustaceans of Australia and the trophic stability hypothesis[J]. *Mar. Biol. Lett.*, **1**: 303 - 313.
Smith P J, Birley A J, Bishop C A, 1989. Mitochondrial DNA in the Atlantic cod, *Gadus morhua*: lack of genetic divergence between eastern and western populations[J]. *J. Fish. Biol.*, **34**: 369 - 373.
Tam Y K, Chu K, 1993. Electrophoretic study on the phylogenetic relations of some species of *Penaeus* and *Metaplenaeus* (Decapoda: Penaeidae) from the south China sea[J]. *J. Crust. Biol.*, **13**(4): 697 - 705.

INTRASPECIFIC DNA SEQUENCE POLYMORPHISM IN THE MITOCHONDRIAL 16*S* rRNA GENE OF THE CHINESE SHRIMP, *Penaeus chinensis*

QIU Gao-feng CHANG Lin-rui XU Qiao-ting FANG Xiong-ying LOU Yun-dong
(*Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai* 200090, *China* *qiugf@online.sh.cn*)

Abstract: The genetic polymorphism in populations of the Chinese shrimp, *Penaeus chinensis*, along the coast of China was examined with mitochondrial DNA analysis. A portion of the 16*S* ribosomal RNA (16*S* rRNA) genes from 17 individuals, five from each of samples caught off Changdao, Yantai, Qingdao, and also for two individuals from a cultured stock sampled from Ningbo was amplified with the polymerase chain reaction (PCR) and sequenced. Out of 523 nucleotide sites, 37 nucleotide positions (7.07%) were variable and 17 haplotypes were found. Molecular phylogenetic tree constructed by UPGMA method suggested that there were some genetic differential among different geographic populations of Chinese shrimp. Changdao population and Yantai population had a closer genetic relationship. The second was Ningbo population. Qingdao populations diverged to be as one relatively independent branch.

Key words: Chinese shrimp, *Penaeus chinensis*; Mitochondrial DNA; 16*S* rRNA gene; DNA sequence; Genetic polymorphism